

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-2-127-140-table-s2>

Таблица S2. Критические показатели качества для индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) для клинического применения
 Table S2. Critical quality attributes for clinical-grade induced pluripotent stem cells (iPSCs)

Показатель качества <i>Quality attribute</i>	Норма <i>Requirements</i>	Метод испытаний <i>Test method</i>	Источник <i>Reference</i>
Идентичность (подлинность) / <i>Identity</i>			
Аутентификация <i>Authentication</i>	STR-профиль клеточной линии ИПСК соответствует STR-профилю первичных клеток донора <i>Corresponding STR profiles of the iPSC cell line and the primary donor cells</i>	STR-анализ <i>STR analysis</i>	Сноска ¹ <i>Footnote¹</i> [25, 26]
Генетическая стабильность <i>Genetic stability</i>	Нормальный (диплоидный) кариотип при исследовании ≥ 20 метафаз ^a <i>Normal (diploid) karyotype in a test involving ≥ 20 metaphases^a</i>	G-кариотипирование <i>G-karyotyping</i>	Сноска ² <i>Footnote²</i> [26]
Экспрессия специфических маркеров <i>Expression of specific markers</i>	Положительная экспрессия маркеров в более чем >70% клеток главного банка клеток <i>Positive marker expression in >70% of cells in the master cell bank</i>	Проточная цитометрия (минимум два маркера из принятой панели ^b). Фармакопейный метод <i>Flow cytometry. At least two markers from the accepted panel^b. Compendial methods</i>	Сноска ³ <i>Footnote³</i> [27, 28]
Чистота / <i>Purity</i>			
Остаточное содержание ДНК вектора <i>Residual amount of vector DNA</i>	Отрицательно (для эписомальных векторов ≤ 1 копии плазмиды на 100 клеток ^c) <i>Negative (for episomal vectors ≤ 1 plasmid copy per 100 cells^c)</i>	Количественная ПЦР в режиме реального времени (после проведения валидации) ^d <i>Quantitative real-time PCR (after validation)^d</i>	Сноска ⁴ <i>Footnote⁴</i>
Жизнеспособность клеток <i>Cell viability</i>	>60%	Тест исключения красителя или проточная цитометрия. Фармакопейный метод <i>Dye exclusion test or flow cytometry. Compendial methods</i>	Сноска ⁵ <i>Footnote⁵</i>
Активность / <i>Potency</i>			
Тест на плюрипотентность <i>Pluripotency test</i>	Присутствие клеток всех трех зародышевых листков <i>All three germ layer cells</i>	Формирование клеток трех зародышевых листков и/или направленная дифференцировка. Формирование тератомы на животных моделях не требуется в качестве анализа активности <i>Formation of cells of three germ layers and/or directed differentiation. Teratoma formation in animal models is not required as a potency analysis</i>	–
Безопасность / <i>Safety</i>			
Стерильность ^e <i>Sterility^e</i>	Должен быть стерильным / <i>Sterile</i>	Фармакопейный метод / <i>Compendial method</i> Альтернативные методы / <i>Alternative methods</i>	Сноска ⁶ <i>Footnote⁶</i> Сноска ⁷ <i>Footnote⁷</i>
Микоплазма <i>Mycoplasma</i>	Отрицательно / <i>Negative</i>	Фармакопейный метод / <i>Compendial method</i> ПЦР после проведения валидации / <i>PCR after validation</i>	Сноска ⁸ <i>Footnote⁸</i> Сноска ⁹ <i>Footnote⁹</i> [29]
Посторонние агенты ^f <i>Adventitious agents^f</i>	Отрицательно / <i>Negative</i>	На основе оценки риска исходных материалов и сырья. Фармакопейный метод <i>Based on the risk assessment of raw materials. Compendial methods</i>	Сноска ¹⁰ <i>Footnote¹⁰</i>
Бактериальные эндотоксины <i>Bacterial endotoxins</i>	Менее 5,0 ЕЭ/мл <i><5.0 UE/mL</i>	Фармакопейный метод <i>Compendial methods</i>	Сноска ¹¹ <i>Footnote¹¹</i>

Таблица составлена авторами по данным [20] с дополнениями / The table is adapted by the authors from [20]

Примечание. ПЦР – полимеразная цепная реакция; STR – метод коротких tandemных повторов.

^a Если аномальный кариотип клеток обнаружен в первых 20 кариотипах, анализ следует повторить на свежем образце, при обнаружении и во втором образце линия считается аномальной.^b Иммунофенотипирование с минимум двумя маркерами из стандартной панели для плюрипотентных стволовых клеток человека (положительные для Oct4, TRA-1-60, TRA-1-81, SSEA-3, SSEA-4, Sox2, Nanog) является обязательным. Следует использовать комбинацию одного внутриклеточного (например, Oct4, Sox2 или Nanog) и одного внеклеточного (например, SSEA-4 или TRA-1-60).^c Для банков посевных материалов и главного банка клеток.^d Следует выбрать две различные области, общие для всех плазмид для репрограммирования, например OriP, EBNA, CAG; для построения стандартной калибровочной кривой необходимо использовать ДНК хорошо охарактеризованной линии ИПСК (например, WA09), растворяя в субстрате; внутренние референтные последовательности ДНК должны использоваться для количественной оценки (для расчета копий плазмиды на клетку), например RNaseP, hTERT; чувствительность должна позволять обнаруживать ≤ 1 копию плазмиды на 100 клеток, а стандартная кривая должна быть подготовлена для включения образцов по крайней мере на 1 логарифм ниже этого уровня, чтобы продемонстрировать предел обнаружения.^e Рекомендуется общая стратегия микробиологического контроля, учитывающая не только тестирование готовой продукции, но и внутрипроизводственный контроль.^f Тестирование на наличие нуклеиновых кислот и антител к вирусу гепатита В, гепатита С, вирусу иммунодефицита человека 1, 2. В случае использования реагентов животного происхождения для культивирования необходимо проведение соответствующего тестирования на наличие посторонних агентов животного происхождения.
Notes. PCR, polymerase chain reaction; STR, Shot Tandem Repeat.^g If an abnormal cell karyotype is detected in the first 20 karyotypes, the analysis should be repeated on a fresh sample, and if found in the second sample (20 karyotypes), the line is considered abnormal.^h Immunophenotyping with at least two markers from the standard hPSC panel (positive for Oct4, TRA-1-60, TRA-1-81, SSEA-3, SSEA-4, Sox2, Nanog) is mandatory. A combination of one intracellular (e.g., Oct4, Sox2, or Nanog) and one extracellular (e.g., SSEA-4 or TRA-1-60) should be used.ⁱ For seed stocks and Master cell bank.^j Two different areas common to all plasmids for reprogramming should be selected as specific targets, for example, oriP, EBNA, CAG; DNA from a well-characterized iPSC lineage (for example, WA09) should be used to construct a standard calibration curve by dissolving into a substrate; internal reference DNA sequences should be used for quantification (for calculation of plasmid copies per cell), for example, RNaseP, hTERT; The sensitivity should allow detection of < 1 plasmid's copy per 100 cells, and a standard curve should be prepared to include samples at least 1 logarithm below this level to demonstrate the detection limit.^k A general microbiological control strategy is recommended, taking into account not only the testing of finished products, but in-process control too.^l Testing for the presence of nucleic acids and antibodies to hepatitis B virus, hepatitis C virus, human immunodeficiency virus 1,2. In the case of using reagents of animal origin for expansion, it is necessary to conduct appropriate testing for the presence of foreign agents of animal origin.¹ Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks. Annex 3. Technical Report Series No 978.WHO; 2013.

ОФС.1.7.2.0011.15 Требования к клеточным культурам – субстратам производства биологических лекарственных препаратов. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018.

² Там же.³ USP 43–NF 38 <1027> Flow cytometry.

2.7.24 Flow cytometry. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

ОФС.2.1.6.16. Проточная цитометрия. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

⁴ USP 43–NF 38 <1125> Nucleic acid-based techniques-general.

USP 43–NF 38 <1126> Nucleic acid-based techniques-extraction, detection, and sequencing.

USP 43–NF 38 <1127> Nucleic acid-based techniques-amplification.

USP 43–NF 38 <1128> Nucleic acid-based techniques-microarray.

2.6.21. Nucleic acid amplification techniques. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

ОФС.2.1.6.17. Методы амплификации нуклеиновых кислот. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд.; 2023.

⁵ USP 43–NF 38 <1046> Cell-based advanced therapies and tissue-based products.

USP 43–NF 38 <1027> Flow Cytometry.

2.7.29 Nucleated cell count and viability. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

2.7.24 Flow cytometry. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

ОФС.2.1.11.9. Определение количества и жизнеспособности эукариотических клеток. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

ОФС.2.1.6.16. Проточная цитометрия. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

⁶ USP 43–NF 38 <71> Sterility tests.

USP 43–NF 38 <61> Microbiological examination of nonsterile products: microbial enumeration tests.

2.6.27 Microbiological examination of cell-based preparations. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

2.6.1 Sterility. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

<4.05> Microbiological examination of non-sterile products. Japanese Pharmacopoeia 17th Ed.; 2022.

<4.06> Sterility test. Japanese Pharmacopoeia 17th Ed.; 2022.

ОФС.2.3.1.5. Методы обеспечения стерильности продуктов. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

ОФС.2.1.6.1. Стерильность. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

ОФС.1.2.4.0003.15 Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018.

⁷ 5.1.6 Alternative methods for control of microbiological quality. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

<G4> Rapid microbial methods. Japanese Pharmacopoeia 17th Ed.; 2022.

ОФС.1.1.0021.18 Валидация микробиологических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018.

⁸ USP 43–NF 38 <63> Mycoplasma tests.

2.6.7 Mycoplasmas. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

<G3> Mycoplasma testing for cell substrates used for the production of biotechnological/biological products. Japanese Pharmacopoeia 17th Ed.; 2022.

⁹ 2.3.14.0. Валидация аналитических методик. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд.; 2023.

ОФС.1.7.2.0031.15 Испытание на присутствие микоплазм. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018.

¹⁰ USP 43–NF 38 <1237> Virology test methods.

2.6.16 Tests for extraneous agents in viral vaccines for human use. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

<G3> Basic requirements for viral safety of biotechnological/biological products. Japanese Pharmacopoeia 17th Ed.; 2022.

2.3.1.3. Вирусная безопасность. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

ОФС.1.7.2.0011.15 Требования к клеточным культурам – субстратам производства биологических лекарственных препаратов. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018.

ОФС.1.2.4.0015.18 Вирусная безопасность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд.; 2023.

¹¹ USP 43–NF 38 <85> Bacterial endotoxins test.

2.6.14 Bacterial endotoxins test. European Pharmacopoeia 11th Ed.; 2024.

<4.01> Bacterial endotoxins test. Japanese Pharmacopoeia 17th Ed.; 2022.

< G4> Decision of limit for bacterial endotoxins. Japanese Pharmacopoeia 17th Ed.; 2022.

ОФС.2.1.6.12. Испытание на бактериальные эндотоксины с использованием рекомбинантного фактора С. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

ОФС.2.1.6.21. Применение испытания на бактериальные эндотоксины. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

ОФС.2.1.6.8. Бактериальные эндотоксины. Фармакопея Евразийского экономического Союза; 2020.

ОФС.1.2.4.0006.15 Бактериальные эндотоксины. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018.

ОФС.1.4.1.0007 Лекарственные препараты для парентерального применения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд.; 2023.